

40-6 - Dietz-Pfeilstetter, A.  
Julius Kühn-Institut

### **Einfluss eines S/MAR-Elements aus Petunien auf die Stabilität der Transgen-Expression** A S/MAR element from petunia affects the stability of transgene expression

Bei der Erzeugung gentechnisch veränderter Pflanzen ist das Ziel eine stabile und vorhersagbare Ausprägung der neuen Eigenschaften über mehrere Generationen. Neben den eingeführten regulatorischen Elementen, der Kopienzahl und dem Integrationsort im Pflanzengenom spielen für die Expression von Transgenen auch epigenetische Effekte eine Rolle. Dazu gehören vor allem verschiedene Formen des "gene silencing", also der Abschaltung von Genen. Epigenetisches "gene silencing" ist Teil der normalen Regulation von Genen während der Entwicklung, ist darüber hinaus aber auch ein Mechanismus zur Abwehr gegen Viren und zur Abschaltung von Transgenen (Eamans et al, 2008). Ein großer Teil der Faktoren, die das "Silencing" von Transgenen auslösen bzw. beeinflussen, sind mittlerweile bekannt. So ist bei Transformanten mit Einzelkopie-Insertionen in hypomethylierten Genombereichen die Wahrscheinlichkeit für die Erzeugung stabiler transgener Linien am größten. Aber auch bei diesen Pflanzen wird gelegentlich eine Abschaltung von Transgenen, insbesondere in den Folgegenerationen und bei Kombination mehrerer Transgene mit Sequenzhomologien, beobachtet (Charrier et al., 2000).

Die Genexpression in transgenen Pflanzen sowie deren Stabilität in Folgegenerationen kann durch Flankierung des Transgens mit sogenannten S/MARs (scaffold/matrix attachment regions) erhöht werden (Ülker et al., 1999; Levin et al., 2005). Wir haben ein S/MAR-Element aus Petunien (Petun-SAR) isoliert (Dietz et al., 1994) und in Markergenkonstrukte eingebaut. Mit den Petun-SAR-Konstrukten transformierte Tabakpflanzen zeigten – anders als Transformanten ohne Petun-SAR – bis zu zwei Kopien eine kopienzahlabhängige Expression des Reportergens. Bei transgenen Linien mit vielen Genkopien und Rearrangements wurde unabhängig von der S/MAR-Flankierung spätestens in der F1-Generation "gene silencing" beobachtet, das mit Methylierungen im Promotor- und im Genbereich assoziiert war. Daraus kann geschlossen werden, dass das Petun-SAR nicht gegen Silencing schützt, das durch multiple Transgen-Loci bedingt ist. Petun-SAR-Linien mit nur einer Genkopie exprimierten das Markergen dagegen in den zwei untersuchten Folgegenerationen stabil, während bei vergleichbaren S/MAR-freien Transformanten bei einem großen Teil der F2-Pflanzen das Transgen nicht mehr exprimiert wurde.

Untersucht wurde auch die Robustheit der Expressionsstabilität gegenüber der Einkreuzung von Transgenen aus instabilen Linien. Die Ergebnisse verschiedener Kreuzungsprodukte zwischen transgenen Linien mit und ohne Petun-SAR werden vorgestellt.

#### Literatur

- [1] B. Charrier, C. Scollan, S. Ross, E. Zubko, P. Meyer, Co-silencing of homologous transgenes in tobacco, *Molecular Breeding* 6 (2000) 407-419.
- [2] A. Dietz, V. Kay, T. Schlake, J. Landsmann, J. Bode, A plant scaffold attached region detected close to a T-DNA integration site is active in mammalian cells, *Nucl. Acids Res.* 22 (1994) 2744-2751.
- [3] A. Eamans, M.-B. Wang, N.A. Smith, P.M. Waterhouse, RNA silencing in plants: yesterday, today and tomorrow, *Plant Physiol.* 147 (2008) 456-468.
- [4] J.S. Levin, W.F. Thompson, A.S. Csinos, M.G. Stephenson, A.K. Weissinger, Matrix attachment regions increase the efficiency and stability of RNA-mediated resistance to *Tomato Spotted Wilt Virus* in transgenic tobacco, *Transgenic Res.* 14 (2005) 193-206.
- [5] B. Ülker, G.C. Allen, W.F. Thompson, S. Spiker, A.K. Weissinger, A tobacco MAR increases transgene expression and protects against gene silencing in the progeny of transgenic tobacco plants, *Plant J.* 18 (1999) 253-263.

40-7 - Ziegler, A.; Ulrich, D.; Weiß, K.; Wilhelm, R.  
Julius Kühn-Institut

### **Stir Bar Sorptive Extraction GC-MS für die Charakterisierung von flüchtigen Inhaltsstoffspektren bei Kartoffel**

Stir Bar Sorptive Extraction GC-MS for the characterization of volatile profiles in potato

Flüchtige Inhaltsstoffe bei Pflanzen (volatile organic compounds;VOC) sind ein bedeutender Faktor bei der direkten und indirekten Abwehr von herbivoren Insekten. Unterschiede in Inhaltsstoffspektren zwischen verschiedenen Genotypen einer Pflanzenart können ausreichend sein, um das Verhalten natürlicher Feinde zu beeinflussen. Daher haben die Phenotypisierung und Aufzeichnung der natürlichen Bandbreite von (flüchtigen) Metaboliten in Kulturpflanzen große Bedeutung. Die Analyse dieser Metaboliten kann Informationen über Stoffe liefern, die anziehend oder abweisend auf Insekten wirken. Sie kann so eine Basis bieten für die Beurteilung der